Evaluación fitoquímica y antibacteriana de *Bidens andicola* Kunth "cadillo", *Alternanthera philoxeroides* (C. Mart.) Griseb. "lancetilla" y *Celosia* sp. "pashquete"

Phytochemical and antibacterial evaluation of *Bidens andicola* Kunth "cadillo", *Alternanthera philoxeroides* (C. Mart.) Griseb. "lancetilla" and *Celosia* sp. "pashquete"

María del Pilar Rodríguez Quezada
Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza, Facultad de Enfermería, Amazonas, PERÚ.
mprq2007@hotmail.com

Oscar Andrés Gamarra Torres
Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Facultad de Ingeniería. Amazonas, PERÚ. *osgat@latinmail.com*

Fredy Romel Pérez Azahuanche
Universidad Privada Antenor Orrego, Facultad de Ciencias de la Salud, Trujillo, PERÚ.
fpereza@upao.edu.pe

Resumen

Se realizó una evaluación fitoquímica y antibacteriana de las especies vegetales *Bidens andicola* Kunth "cadillo", *Alternanthera philoxeroides* (C. Mart.) Griseb. "lancetilla" y *Celosia* sp. "pashquete"; usados en medicina tradicional para el tratamiento de infecciones urinarias. Para el análisis fitoquímico preliminar se usó el método cualitativo de ensayo a la gota, en extractos con solventes de diferente polaridad (cloroformo, etanol 96%, agua y HCl 1%) y para la evaluación antibacteriana contra *Escherichia coli* se empleó el método de difusión en agar de extractos acuosos y etanólicos 70%. Las tres especies presentaron en común esteroides, flavonoides y taninos; pero sólo la especie *Bidens andicola* Kunth "cadillo" presentó cardiotónicos y *Alternanthera philoxeroides* (C. Mart.) Griseb. "lancetilla" alcaloides. Se encontró que el extracto acuoso de "lancetilla" y el extracto etanólico de "cadillo", presentaron actividad contra *E. coli.*, en cambio ninguno de los extractos etanólicos y acuosos del "pashquete" presentaron actividad.

Palabras claves: Evaluación fitoquímica y antibacteriana, *Bidens andicola, Alternanthera philoxeroides, Celosia* sp.

Abstract

Phytochemical and antibacterial evaluation of "cadillo", *Bidens andicola* Kunth; "lancetilla", *Alternathera philoxeroides* (C. Mart.) Griseb.; and "pashquete", *Celosia* sp,. were carried out. These vegetable species are used in traditional medicine for the treatment of urinary infectioners. Drop assay qualitative method was used in the preliminary phytochemical analysis with extracts obtained with solvents of different polarity (chloroform, ethanol 96%, water, and HCl 1%). The antibacterial evaluation against *Escherichia coli* was made with the diffusion method in agar for water and ethanolic 70% extracts. The three species showed: steroids, flavonoids, and tannins. Cardiotonics and alkaloids were found only in "cadillo" and "lancetilla", respectively. Aqueuos "lancetilla" extract and ethanolic "cadillo" extract showed some activity against *E. coli*; but, aqueous and ethanolic pashquete extracts not showed activity.

Key words: Phytochemical and antibacterial evaluation, *Bidens andicola, Alternanthera philoxeroides, Celosia* sp.

Introducción

Las infecciones urinarias son un motivo frecuente de consulta médica en la atención primaria. Generalmente es monobacteriana, el germen más frecuente es *Escherichia coli* (85%), seguido por *Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae, Streptococcus agalactiae* (en mujer gestante, anciano y diabético) (Sánchez, 2009), y son tratadas mediante el uso de antibióticos para eliminar el microorganismo patógeno de las vías urinarias, antiinflamatorios para disminuir las molestias

de la inflamación del tracto urinario.

La tendencia actual de las industrias es fabricar los denominados fitofármacos, que pueden ser mezclas de principios activos de fuentes naturales (plantas medicinales) de similar o diferente acción farmacológica destinados al tratamiento de determinadas patologías.

Los principios activos son toda sustancia dotada de actividad farmacológica, suelen ser metabolitos secundarios de la planta, es decir, que no son fundamentales para ella (suele tratarse de sustancias de reserva, productos para repeler o para atraer a los insectos para la polinización, entre otros) (Valcárcel, 2006). Estos principios varían a lo largo de una misma especie y en una .isma planta de acuerdo a factores como época del año, característica del suelo, entre otros.

Los análisis bioquímicos son los que han podido determinar cuales son los componentes principales de las plantas medicinales, es decir los principios activos.

Existen investigaciones que demuestran que ciertos principios activos presentes en extractos de plantas medicinales tienen actividad antibacteriana. Al respecto, se reportó actividad antibacteriana de aceites esenciales de las especies *Thymus vulgaris* y *Eucalyptus globulus* frente al *Staphylococcus aureus* (Tohidpour, 2010); de los extractos etanólicos de la especie *Bidens cernua* L., contra *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. guilliermondii* (Hladun, *et al*, 2002) y un estudio de las propiedades antibacterianas de plantas nativas de Khuzastan e Iran frente a diferentes cepas de bacterias (Seyyednejad, 2010), entre otros.

Saber cómo utilizar las diferentes plantas es importante a la hora de elegir. Para la combinación de hierbas existen determinadas reglas. El conocimiento de estas mezclas permite que la cura o el alivio de las diversas dolencias no perjudiquen a otra parte del organismo. Las mezclas suelen incluir en su fórmula una hierba base, específica para la dolencia que se vaya a tratar, y otras que contribuyen a lograr los efectos buscados y, en algunos casos, permiten corregir el sabor amargo o desagradable de ciertas plantas medicinales.

Bidens andicola Kunth (Asteraceae) "cadillo", *Alternanthera philoxeroides* (C. Mart.) Griseb. (Amaranthaceae) "lancetilla" y *Celosia* sp. (Amaranthaceae) "pashquete", son plantas medicinales a las cuales los agentes comunitarios de la medicina tradicional del nororiente masónico peruano, les atribuyen propiedades curativas de las infecciones urinarias además de otras alteraciones más.

Mediante el análisis fitoquímico y antibacterial de estos recursos vegetales, que usan las comunidades pertenecientes a la región nororiental amazónico del Perú, se logrará reforzar el sustento científico y el fortalecimiento del aporte de la medicina tradicional, y por ende una oportunidad de desarrollo de estas comunidades selváticas mediante la producción y procesamiento industrial de especies vegetales con propiedades medicinales.

Material y Métodos

Material vegetal

Las especies vegetales fueron colectadas de mayo a agosto del 2010. *Bidens andicola* Kunth "cadillo", *Alternanthera philoxeroides* (C. Mart.) Griseb. "lancetilla" y *Celosia* sp."pashquete", fueron colectadas en los distritos de Colcamar, Cuispes, Shipasbamba y San Carlos (1 900 msnm), provincia Chachapoyas, región Amazonas. Los especímenes fueron identificados y clasificados botánicamente. Las muestras se secaron primero a la sombra por tres días y luego en estufa (Selecth-Digitheat) a 40°C, para finalmente ser pulverizados (molino mecánico) y almacenados en sobres de papel.

Ensayos in vitro de actividad antibacteriana

Preparación de extractos: Se pesaron muestras de 20 g de material vegetal seco y molido, luego se colocaron en vasos de 400 mL con 100 mL de etanol 70% y se dejó en reposo por 5 días. Los productos fueron filtrados, evaporados a sequedad en estufa a 37°C y esterilizados con radiación ultravioleta por 24 horas. Para el caso de los extractos acuosos, se usaron los mismos pesos de muestras, se sometieron a ebullición por 5 minutos, luego se dejaron en reposo por 20 minutos para finalmente ser filtrados y usados

en los ensayos antibacterianos.

Ensayos con *Escherichia coli*: Para evaluar la actividad antibacteriana de los extractos preparados, se utilizó el método de difusión en agar según los estándares internacionales (Koneman *et al.*, 1997). Se empleó como patrón de referencia la gentamicina. Se realizaron 3 réplicas y los resultados que se consideraron fueron el promedio de los valores obtenidos en cada caso.

Análisis fitoquímico preliminar

Se realizaron mediante el ensayo cualitativo a la gota (Dominguez, 1973; Harborne, 1984; Trease, 1986; Barba, 1997)

Preparación de extractos: Se prepararon cuatro extractos con solventes de diferente polaridad (cloroformo, etanol 96%, agua y HCl 1%); para ello se pesaron cuatro muestras de material vegetal seco y molido (5,0 g de cada una), luego se empaquetaron con papel filtro y colocados en vasos de precipitación de 200 mL con 30 a 40 mL de solvente respectivo y tapados con luna de reloj.

Las muestras se sometieron a calentamiento con baño maría por espacio de 5 minutos, evitando que se evapore todo el solvente. Para el caso de HCl 1% se empleó 10 minutos.

Ensayos cualitativos a la gota

Extracto clorofórmico

1. Esteroides: se realizó el ensayo de Liebermann-Burchard. A 5 gotas del extracto se añadió 5 gotas de anhídrido acético y luego gotas de ácido sulfúrico concentrado. Una coloración verde azul, azul verdoso, violeta o roja, indicó la presencia de un núcleo esteroidal o triterpenoidal.

2. Quinonas: se realizó el ensayo de Börntrager. A 5 gotas del extracto, llevado a sequedad, se agregó 5 gotas de tolueno y luego 5 gotas de NaOH al 5%. La aparición de una coloración roja en la fase acuosa, nos indicó la presencia de antraquinonas y naftoquinonas.

Extracto etanólico

1. Flavonoides: se realizó el ensayo de Shinoda. A 5 gotas de muestra se colocó unos trocitos de magnesio metálico y luego 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado. La coloración rojiza nos indicó la presencia de flavonoides.

2. Cardiotónicos: se realizó el ensayo de Kedde. A 5 gotas del extracto se agregó 3 gotas de reactivo de Kedde. La aparición de coloraciones violetas o púrpuras indicó prueba positiva de la existencia de cardiotónicos.

3. Taninos: se realizó el ensayo de cloruro férrico. A 5 gotas del extracto se añadió 2 gotas de solución de FeCl3 al 10%. Una coloración azul indicó la presencia de taninos hidrolizables y una coloración verde indicó la presencia de taninos condensados.

Extracto acuoso

1. Antocianinas: se realizar el ensayo del pH (medio ácido y básico). A 5 gotas del extracto se añadió 3 gotas de HCl concentrado. Se observó el color formado. A otra muestra de 5 gotas de extracto se añadió 3 gotas de NaOH al 5%. Se observó el color formado. Las antocianinas se reconocieron por producir diferentes colores a diferentes pH.

2. Saponinas: se realizó el ensayo de la espuma. A 3 ml. del extracto en un tubo de ensayo se agitó vigorosamente por 30 segundos, se esperó 15 minutos. La persistencia de la espuma nos indicó la presencia de saponinas.

Extracto ácido (HCl al 1%)

1. Alcaloides: se realizaron los ensayos de Dragendorff, Meyer y Wagner. Se colocaron en 3 tubos de ensayo 1 mL de extracto ácido. Se añadió a cada uno 2 gotas de los reactivos de Dragendorff, Mayer y Wagner. La formación de turbidez o precipitados (rojo a naranja, blanco a crema y marrón), indicó que la muestra tuvo alcaloides.

Resultados y discusión

El efecto antibacteriano de los extractos etanólicos y acuosos frente a la *Echerichia coli*, de las tres especies vegetales, se encuentran resumidos en la Tabla 1 y 2 respectivamente.

De los extractos etanólicos la especie *Bidens andicola* Kunth "cadillo" y de los acuosos la *Alternanthera*

Tabla 1. Actividad frente a *Escherichia coli* de extractos etanólicos

ESPECIE VEGETAL	DIÁMETRO DEL HALO (mm)
lancetilla	0
cadillo	15
pashquete	0
MEDICAMENTO	
Gentamicina 10 µg	19

Tabla 2. Actividad frente a *Eschericha coli* de extractos acuosos

ESPECIE VEGETAL	DIÁMETRO DEL HALO (mm)
lancetilla	15
cadillo	0
pashquete	0
MEDICAMENTO	
Gentamicina 10 µg	20

Tabla 3. Análisis fitoquímico preliminar de hojas y tallos *Bidens andicola* Kunth "cadillo"

ENSAYOS	EXTRACTOS				OBSERVACIONES
	$CHCl_3$ Color: marrón oscuro	EtOH Color: verde oscuro	H_2O Color: marrón oscuro	HCl 1% Color: marrón claro	
Quinonas	-	*	*	*	No hubo variación de color
Esteroides	+	*	*	*	Varió de verde oscuro a verde azulado
Flavonoides	*	+	*	*	Varió de verde oscuro a magenta
Cardiotónicos	*	+	*	*	Varió de verde oscuro a marrón rojizo
Taninos	*	+	*	*	Varió de verde oscuro a marrón oscuro
Antocianinas	*	*	-	*	No hubo variación de color
Saponinas	*	*	-	*	No hubo formación de espuma
Alcaloides	*	*	*	-	No formó precipitado

(+): Presencia de metabolito secundario
(-): Ausencia de metabolito secundario
(*): No se realizó el ensayo

Tabla 4. Análisis fitoquímico preliminar de hojas y tallos *Alternanthera philoxeroides* (C. Mart.) Griseb. "lancetilla"

ENSAYOS	EXTRACTOS				OBSERVACIONES
	$CHCl_3$ Color: marrón	EtOH Color: verde	H_2O Color: marrón	HCl 1% Color: marrón	
Quinonas	-	*	*	*	No hubo variación de color
Esteroides	+	*	*	*	Varió de verde oscuro a verde azulado intenso
Flavonoides	*	+	*	*	Varió de verde oscuro a magenta
Cardiotónicos	*	-	*	*	No hubo variación de color
Taninos	*	+	*	*	Varió de verde oscuro a marrón verdoso
Antocianinas	*	*	-	*	No hubo variación de color
Saponinas	*	*	+	*	Espuma a una altura de 5 cm.
Alcaloides	*	*	*	+	Turbidez

(+): Presencia de metabolito secundario
(-): Ausencia de metabolito secundario
(*): No se realizó el ensayo

Tabla 5. Análisis fitoquímico preliminar de hojas y tallos *Celosia* sp. "pashquete"

ENSAYOS	EXTRACTOS				OBSERVACIONES
	$CHCl_3$ Color: Verde marrón	EtOH Color: Verde oscuro	H_2O Color: Marrón oscuro	HCl1% Color: Marrón claro	
Quinonas	-	*	*	*	No hubo variación de color
Esteroides	+	*	*	*	Varió de verde a verde azulado intenso
Flavonoides	*	+	*	*	Varió de verde a magenta
Cardiotónicos	*	-	*	*	No hubo cambio de color
Taninos	*	+	*	*	Varió de verde oscuro a violeta a negro
Antocianinas	*	*	+	*	Cambió el color según pH
Saponinas	*	*	+	*	Espuma a una altura de 4 cm.
Alcaloides	*	*	*	-	No formó precipitado

(+): Presencia de metabolito secundario
(-): Ausencia de metabolito secundario
(*): No se realizó el ensayo

philoxeroides (C. Mart.) Griseb. "lancetilla" presentaron actividad contra *Escherichia coli.*, en cambio *Celosia* sp. "pashquete" no presentó actividad alguna en ninguno de los extractos.

Los resultados indican también que la actividad biológica de los extractos fueron de similar efectividad que la gentamicina (similar diámetro de halo).

El análisis fitoquímico preliminar de las tres especies se encuentran resumidos en la Tablas 3, 4 y 5.

Las tres especies presentaron en común esteroides, flavonoides y taninos; pero sólo la especie *Bidens andicola* Kunth "cadillo" presentó cardiotónicos y *Alternanthera philoxeroides* (C. Mart.) Griseb. "lancetilla" presentó alcaloides. Probablemente la diferenciación de metabolitos secundarios de estas dos especies respecto a la *Celosia* sp. "pashquete" justifique la diferencia de actividad frente a la *E. coli.* Los glicósidos cardiotónicos y alcaloides han demostrado tener entre sus propiedades biológicas actividad antibacteriana (Takechi, 1998; Gomez, 2007).

Conclusiones

El análisis fitoquímico preliminar de las tres especies vegetales estudiadas: *Bidens andicola* Kunth "cadillo", *Alternanthera philoxeroides* (C. Mart.) Griseb. "lancetilla" y *Celosia* sp. "pashquete", indicaron la presencia común de esteroides, flavonoides y taninos; pero sólo la especie *B. andicola* Kunth "cadillo" presentó cardiotónicos y la *A. philoxeroides* (C. Mart.) Griseb. "lancetilla" presentó alcaloides.

Se identificó actividad contra *Eschericha coli* del extracto acuoso de *A. philoxeroides* (C. Mart.) Griseb. "lancetilla" y el extracto etanólico de *B. andicola* Kunth "cadillo", pero ninguna actividad de los extractos acuoso y etanólico de *Celosia* sp. "pashquete".

Literatura citada

Barba, J. 1997. Introducción al análisis de productos naturales; laboratorio de fitoquímica. Universidad Autónoma Metropolitana, México, D.F.

Domínguez, X.A. 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica, Ed. Limusa, México.

Gómez, Y.; K. Gil, E. González & L.M. Farías. 2007. Actividad antifúngica de extractos orgánicos del árbol *Fagara monophylla* (Rutaceae) en Venezuela Rev. Biol. Trop. 55: 767-775.

Harborne, B.J. 1984. Phytochemical methods, a guide to modern techniques of plant analisys, 2a edition, Chapman and Hall, New York.

Hladun N. P. ; A.S. Bondarenko; S.S. Nahorna & O.V. Smyrnova. 2002. Investigation of the activity of the preparation cerbiden against Candida spp. Mikrobiol Z. 64:57-61

Koneman, E.W.; S.D. Allen; W.M. Janda; P.C. Schreckenber & W.C. Wien. 1997. Color Atlas of Diagnostic Microbiology. Lippincott, pp. 785-881.

Sánchez D. 2009. Infecciones en vías urinarias. 02 de diciembre del 2010. Disponible en: http://www.scribd.com/doc/21019070/Inf-en-Vias-Urinarias

Seyyednejad, S.M. & H. Motamedi. 2010. International Journal Pharmacology 6:551-560

Takechi, M.; Y. Kousaka; C. Uno & Y. Tanaka. 1998. Planta Med. 64:179.

Tohidpour, A.; M. Sattaria; R. Omidbaigi; A. Yadegar & J. Nazemi. 2010. Phytomedicine 17:142-145.

Trease, G.E. 1986. Tratado de Farmacognosia, 12ª edición, EMALSA, S.A. México, D.F.

Valcárcel M.J. 2006. Fitoterapia. Revista de Salud Discovery DSalud. Acceso: 25 de Febrero del 2010. Disponible en: http://www.dsalud.com/fitoterapia_numero17.htm